Aus der II. Inneren Abteilung des Städtischen Krankenhauses Neukölln
Berlin - Neukölln
Dirigierende Ärztin: Prof. med. Irene Boll

GESCHWINDIGKEIT und GRÖßE der LYMPHOCYTEN im PHASENKONTRASTZEITRAFFERFILM

DISSERTATION

zur

Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde

am Fachbereich Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde

der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Zahnarzt Heinz Jürgen Gebauer

aus Metelen

1978

Aus der II. Inneren Abteilung des Städtischen Krankenhauses Neukölln
Berlin - Neukölln
Dirigierende Ärztin: Prof. med. Irene Boll

GESCHWINDIGKEIT und GRÖßE der LYMPHOCYTEN im PHASENKONTRASTZEITRAFFERFILM

DISSERTATION

zur

Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde
am Fachbereich Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Zahnarzt Heinz Jürgen Gebauer
aus Metelen

Referent : Prof. Dr. med. Irene Boll

Korreferent : Prof. Dr. med. Hermann Michel

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereiches Zahn-,Mund- und Kieferheilkunde der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 8.11.1978

UNIV. LEIDEN BIBL.

INHALTSVERZEICHNIS SEITE

EINLEITUNG 1

MATERIAL UND METHODE 4

ERGEBNISSE 7

Phytohämagglutinin stimulierte Zellen 7

Pokeweed stimulierte Zellen 12

Lipopolysaccharid stimulierte Zellen 13

Unstimulierte Leukozytenkulturen 14

Lymphocyten aus Knochenmarkkulturen 15

Lymphocyten aus lymphatischen Systemerkrankungen 18

Lymphocyten aus chronisch lymphatischen Leukämien 19

Stimulierte Lymphocyten 21

Mittelwerttabelle 23

Prüfstatistik 24

Zwischenzellige Beziehungen 26

Ruheperioden 27

DISKUSSION 28

ZUSAMMENFASSUNG 33

LITERATURVERZEICHNIS 34

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41544710_0021

E I N L E I T U N G

Zellbewegungen teilte P.WEISS 1961 in Eigenbewegung ohne Ortsveränderung und in Bewegung mit Ortsveränderung, die Lokomotion, ein. Zur Eigenbewegung gehören Zellkontraktionen, Blisterbildungen, Bewegungen von Mikrofilamenten, undulierende Membranen, pseudopodienartige Plasmafortsätze sowie Verformungen des Zellkernes, Granulakinetik und die Bewegung der Vacuolen und Glanzkörner (G.BRECHER 1976).
Bewegungen mit Ortsveränderung, Lokomotion, können aktiver und passiver Natur sein, sowie gezielte als auch ziellose Bewegungsabläufe beinhalten. Auf Grund der Art des Reizes werden folgende Theorien für die Lokomotion angenommen:

1. Chemotaxis
2. Galvanotaxis
3. Phototaxis
4. Nekrotaxis
5. Mechanotaxis

Unterschiedliche Gradienten des Reizes bestimmen somit Richtung und Geschwindigkeit der Bewegung. RANVIER beschrieb 1885 als erster die Lokomotion der Lymphocyten. Er bezeichnete sie als amoeboid, was in den folgenden Jahren viele Autoren bestätigten (JOLLY 1898, WOLFF 1901, HIRSCHFELD 1901, NEUMANN 1903). Umfangreiche Untersuchungen über Chemotaxis bei Lymphocyten folgten. MAXIMOW 1924 untersuchte den Effekt von Tuberkelbazillen auf Zellkulturen, DIXON und MC CUTCHEON 1935 benutzten als chemotaktisches Agens staphylococcus albus, Mycobacterium tuberculosis, staphylococcus aureus, micrococcus tetragenus und salmonella typhi. All diese Versuche ergaben keinerlei Nachweis für Chemotaxis bei Lymphocyten (H.HARRIS). Neuere Untersuchungen mit staphylococcus aureus bestätigten diese Ergebnisse (L.KASS und P.P.H. DE BRUYN 1967).

Die aktive Fortbewegung der Lymphocyten ist noch immer nicht geklärt. Sicher spielen lokale Änderungen der Oberflächenspannung sowie Sol-Gel-Umwandlungen bestimmter Cytoplasmabezirke eine Rolle (STOBBE 1963).

Erste Geschwindigkeitsmessungen von menschlichen Lymphocyten liegen von LEWIS 1921 und MC CUTCHEON 1924 vor. LEWIS gibt die Geschwindigkeit der beobachteten Lymphocyten in Plasmakultur mit 1,3- 30 $\mu m \cdot min^{-1}$ an, während MC CUTCHEON bei Blutkulturpräparaten 4- 15 $\mu m \cdot min^{-1}$ angibt. DE BRUYN beobachtete 1945 bei Kaninchenlymphocyten eine Durchschnittsgeschwindigkeit von 33 $\mu m \cdot min^{-1}$. Neuere Untersuchungen von NORBERG 1973 ergaben bei Menschenlymphocyten 18-24 $\mu m \cdot min^{-1}$.

Mit der Entwicklung des Phasenkontrastmikroskopes durch ZERNICKE 1944 ergaben sich neue Möglichkeiten zur Untersuchung morphologischer Zusammenhänge. RIND unterschied 1958 bei Lymphocyten drei Bewegungstypen:

Typ I : Der Lymphocyt befindet sich im Zustand scheinbarer Bewegungslosigkeit. Erst bei starker Zeitraffung lassen sich leichte Änderungen des Cytoplasmas und der Kernfiguration erkennen.

Typ II : Der Lymphocyt zeigt rege Oberflächenbewegung, aber keinen oder nur geringen Ortswechsel.

Typ III: Der Lymphocyt bewegt sich langsam fort in charakteristischer „Handspiegelform", mit einer undulierenden Membran am vorderen Zellpol und einem Bürzel am hinteren Pol.

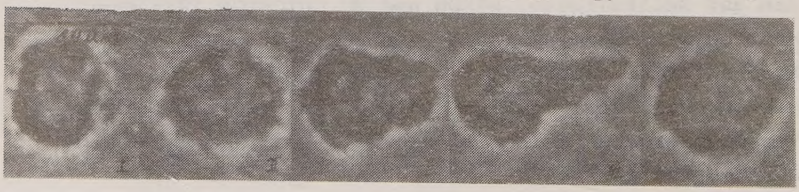


Abb.1 Film 948 Lymphocyt aus KM D. Phasenkontrast-Filmbildaufnahmen, Ölimmersion, Mikroskopvergrößerung 100fach.

Als NOWELL 1959 den stimulierenden Effekt von Phytohämagglutinin auf Lymphocyten in vitro entdeckte, war die Theorie, daß der Lymphocyt eine Endzelle sei widerlegt (YOFFEY 1962). In vivo konnte die Umwandlung von kleinen Lymphocyten in große, teilungsfähige Zellen von GOWANS und PORTER 1962 beobachtet werden (TANAKA 1963). In den folgenden Jahren konnten auch die stimulierenden Eigenschaften von Phytohämagglutinin und Pokeweed experimentell genutzt werden. Der so aus dem Lymphocyt durch stimulierende Zusätze entstehende Immunoblast weist ebenfalls die Fähigkeit zur Lokomotion auf (BOLL und KRETSCHMER 1967, BIBERFELD 1971).

PROBLEMSTELLUNG

Das kinetische Verhalten der normalen Lymphocyten ist hinreichend bekannt, aber das bei lymphatischen Systemerkrankungen ist noch wenig untersucht.
In der vorliegenden Arbeit wurden Geschwindigkeit und Größe von Lymphocyten unter verschiedenen pathologischen Bedingungen verglichen mit den unter normalen Bedingungen. Die ermittelte Größe in μm^2 kann nicht absolut, sondern nur als Bezugsgröße angesehen werden, da die Zellen in verschiedenen Präparaten sich unterschiedlich flach ausbreiten. Dies ist auch abhängig von der Art des untersuchten Materials sowie der Schichtdicke des Präparates.
Das Patientenmaterial umfaßte:

a. Gesunde
b. Chronisch lymphatische Leukämien
c. Lymphatische Systemerkrankungen

Das Zellmaterial stammte aus Blut, Knochenmark und Lymphknoten. Zum Teil hatten stimulierende Zusätze wie Phytohämagglutinin, Pokeweed und Lipopolysaccharid auf die Lymphocyten gewirkt. Besondere Beachtung fanden die Dauer der Zellruheperioden sowie zwischenzellige Beziehungen. Zur Auswertung stand ein umfangreiches Filmarchiv zur Verfügung, ergänzt durch eigene Beobachtungen mit mikrokinematographischer Dokumentation.

M A T E R I A L und M E T H O D E

Um Lebendbeobachtungen mit dem Phasenkontrastmikroskop durchführen zu können, werden nach einem von BOLL 1956, 1966 angegebenen Verfahren „platte Kulturen" angelegt. Hierzu wird auf dem Objektträger ein Koagulumtropfen flach ausgezogen, der aus 50% Nativ-Plasma des betreffenden Patienten, 10% Corhormon^{R} dreifach verstärkt der Fa. Chemiewerke Homburg und 40% Hanks Lösung bzw. autologem Serum besteht. Auf den geronnenen Koagulumtropfen werden sodann entweder durch Sternalpunktat gewonnene Knochenmarkbröckchen oder Blutzellen aus vorbereiteten Kulturen aufgebracht. Mit einem Deckgläschen wird eine planparallele Kammer hergestellt, die nicht zu dick sein darf, da die Zellen bei der Beobachtung sonst schwimmen. Bei einer dünnen planparallelen Kammer breiten sich die Zellen flach aus und die Zellinnenstrukturen stellen sich objektgetreu dar. Schließlich wird das Präparat noch mit Hartparaffin luftdicht verschlossen.
Die zur Lebendbeobachtung notwendigen Blutkulturen werden nach der von BOLL und KRETSCHMER 1966 beschriebenen Methode angelegt. Hierbei können auch verschiedene stimulierende Zusätze wie Phytohämagglutinin, Pokeweed, Endotoxin, Lipopolysaccharid u.a. angewandt werden.
Es stehen vier Phasenkontrastmikroskope mit 70- und 100 fachen Ölimmersionsobjektiven zur Verfügung. Zwei „Laborlux"-Geräte der Firma Leitz, ein Zeiss „Opton" Gerät und ein Zeiss „Standard WL"-Gerät, die jeweils in einem Mikroskopwärmeschrank bei 37^{o} C stehen.
Zur kinematographischen Dokumentation kommen Bolex H 16 Kameras ohne Objektiv zum Einsatz, die mit einer Zeitraffer- und Trickeinrichtung der Firma Kindervater gekoppelt sind. Die Belichtungszeit beträgt 1/4 Sekunde bei einem Aufnahmeabstand von 20 bzw.15 Sekunden. Bei Bedarf kann im Dauerlauf bis zu einem Bild pro Sekunde aufgenommen werden.

Die kinematographische Auswertung der in positivem Phasenkontrast aufgenommenen Filme, die anschließend auf Positivfilme umkopiert werden, erfolgt mit dem HKS-Filmbetrachter der Firma Hünemörder.
Hiermit kann die von RICHTER 1962 für einen wissenschaftlichen Film geforderte Auswertung der Teilbild- Analyse und der Laufbild- Analyse vorgenommen werden. Um jederzeit reproduzierbare Auswertungsergebnisse zu erhalten sollten folgende Kriterien beachtet werden:

1. Ein Aufnahmeprotokoll ist erforderlich um technische Daten und Versuchsbedingungen festzustellen.
2. Die Teilbildanalyse muß immer in dem selben Bildausschnitt erfolgen, um Bewegungen der Zellen exakt ermitteln zu können.
3. Die echte Wanderungsgeschwindigkeit der Zelle kann nur ermittelt werden, wenn die Teilbildanalyse an vergleichbaren Stellen vorgenommen wird. Meist bietet sich hier der hintere Zellpol oder die Vorderseite des Kerns an (Abb.2).

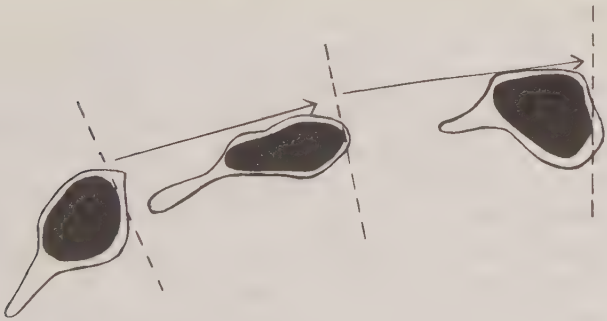


Abb.2
Teilbildanalyse eines wandernden Lymphocyten mit Zellkern als Bezugspunkt.

Nach RIND 1958 bietet dieses Verfahren folgende Möglichkeiten:

1. Langsam ablaufende Vorgänge werden durch Zeitraffung deutlich.
2. Ein Vorgang kann beliebig oft wiederholt werden.
3. Zeitlich auseinanderliegende Vorgänge können direkt miteinander verglichen werden.
4. Einzelne Vorgänge können durch Auswertung von Teilbildern graphisch dargestellt werden.

Durch Umkehr des Phaseneffektes entsteht an der Peripherie der Zelle ein Lichthof (Halo), der bei einer flach ausgebreiteten Zelle schmal ist, bei einer abgekugelten Zelle, z.B. während einer Mitose, breiter wird. Als Meßpunkt dient jeweils der innere Rand des Halo.
Um die Zellgröße zu ermitteln wird jede Zelle am Filmbetrachter umzeichnet. Diese Zeichnung wird dann dreimal planimetriert und der Mittelwert aus den Messungen aufgezeichnet. Nach Umrechnung mit einem Faktor, der sich aus Mikroskopvergrößerung und Filmbetrachtervergrößerung ergibt, steht die eigentliche Zellgröße fest.
Ebenso wird bei der Geschwindigkeitsmessung verfahren. Es müssen jedoch für eine wandernde Zelle mehrere aufeinanderfolgende Umzeichnungen vorgenommen werden.
Aus der zurückgelegten Wegstrecke sowie der Bildaufnahmefrequenz, die im Aufnahmeprotokoll festgehalten ist, ergibt sich nach Umrechnung mit dem jeweiligen Faktor die Zellgeschwindigkeit.
Die Kerngrößen/Zellgrößen Relation (K/Z) erfolgt durch Division der Kerngröße durch die Zellgröße.
Für die Prüfstatistik wurden der U-Test nach MANN-WHITNEY und der H-Test nach KRUSKAL-WALLIS verwendet.

E R G E B N I S S E

Vorbemerkungen:

In den nachfolgenden Ergebnissen wurden nach BOLL und SOMMER 1976 Zellen bis zu einer Zellfläche von 65,7 μm^2 $\pm$ 13,8 μm^2 und einer Kernfläche von 42,3 $\pm$ 6,7 μm^2 als Lymphocyten bezeichnet. Größere Zellen wurden Immunoblasten genannt. Die folgenden Abkürzungen wurden verwandt:

ULK = unstimulierte Leukozytenkultur
CLL = chronisch lymphatische Leukämie
Geschw. = Geschwindigkeit
Ibl = Immunoblast
KM = Knochenmark
K/Z = Kern/Zytoplasma- Relation
LPS = Lipopolysaccharid
Ly = Lymphocyt
LS = lymphatische Systemerkrankungen
PHA = Phytohämagglutinin
PW = Pokeweed

Tabelle 1
Phytohämagglutinin stimulierte Zellen

N	Film Nr.	Pat.	Zelle	Fläche Kern [μm^2]	Fläche Zelle [μm^2]	K/Z	Geschw. [$\mu m \cdot min^{-1}$]
1)	167/2255	P.	Ibl	35,2	86,1	0,4	-
2)	167/2256	Sch.	Ly	14,1	28,5	0,49	-
3)	167/2256	P.	Ly	13,8	28,8	0,47	4,8
4)	35/1323	Pae.	Ibl	66,9	178,2	0,37	-
5)	35/1315	Pae.	Ibl	72,6	218,2	0,33	1,77
6)	108/1325	Pae.	Ibl	77,0	165,6	0,46	0,62
7)	35/1328	N.	Ly	25,7	44,8	0,57	2,13
8)	136/1748	D.	Ibl	-	124,7	-	0,14
9)	236/2237/31	St.	Ibl	45,6	129,2	0,35	4,0
10)	236/2227	St.	Ibl	31,1	90,5	0,34	1,1

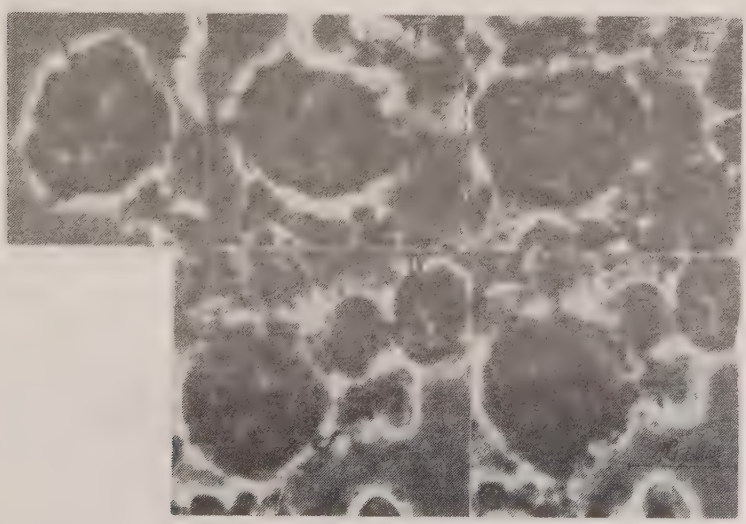
N	Film Nr.	Pat.	Zelle	Fläche Kern [μm^2]	Fläche Zelle [μm^2]	K/Z	Geschw. [$\mu m \cdot min^{-1}$]
11)	236/2225	Sch.	Ibl	43,0	134,1	0,32	0,7
12)	169/1023	Ste.	Ibl	33,6	81,1	0,41	4,5
13)	106/1026	Ste.	Ibl	67,1	110,1	0,61	3,9
14)	106/987	Br.	Ibl	46,3	85,4	0,54	6,3
15)	73/749	P.	Ly	37,3	60,8	0,61	8,4
16)	73/749	P.	Ly	23,5	46,3	0,51	8,4
17)	73/749	P.	Ly	29,3	47,4	0,62	11,6
18)	73/749	P.	Ly	33,3	61,5	0,54	7,1
19)	73/750	P.	Ly	17,5	36,3	0,48	8,6
20)	106/1050	A.	Ibl	59,0	108,6	0,54	2,2
21)	102/994	S.	Ibl	59,8	99,9	0,59	2,2
22)	110/1193	Br.	Ibl	50,9	103,0	0,49	2,9
23)	128/1194	Br.	Ibl	83,3	184,3	0,45	0,9
24)	128/1194	Br.	Ibl	39,4	83,3	0,47	4,5
25)	128/1194	Br.	Ibl	69,8	135,0	0,52	2,3
26)	128/1203	St.	Ly	26,5	58,7	0,45	7,1
27)	128/1990	Ac.	Ibl	47,4	171,3	0,28	0,5
28)	128/1974	H.	Ibl	-	-	-	1,6
29)	128/1993	W.	Ly	26,1	56,3	0,46	4,1
30)	110/1111	D.	Ibl	66,6	145,5	0,45	1,9
31)	110/1112	Z.	Ly	34,3	76,5	0,45	5,5
32)	110/1149	H.	Ibl	50,2	125,1	0,40	1,6
33)	150/1715	F.	Ly	27,2	54,4	0,50	14,2
34)	150/1689	M.	Ibl	77,8	133,1	0,58	5,8
35)	150/1689	M.	Ibl	55,4	109,8	0,50	8,1
36)	150/1483	L.	Ly	23,7	58,7	0,40	10,3
37)	150/1482	L.	Ly	40,2	56,1	0,71	3,5
38)	150/1483	L.	Ly	27,3	58,7	0,46	3,6
39)	176/1792	R.	Ly	27,2	60,8	0,45	5,1
40)	212/1936	B.	Ly	20,8	45,1	0,46	3,9
41)	212/1940	B.	Ly	22,1	53,7	0,41	2,8
42)	212/1940	B.	Ibl	44,5	109,4	0,4	3,9
43)	212/1940	B.	Ibl	31,4	79,7	0,39	5,4

Aus phytohämagglutinin stimulierten Zellkulturen von Patienten ohne lymphatische Systemerkrankungen wurden 18 Lymphocyten und 25 Immunoblasten gemessen. Die Mittelwerte sind aus der Tabelle 9 (S.23) zu ersehen.

Die Kern- bzw. Zellflächen der Lymphocyten liegen mit 26,11 μm^2 bzw. 51,33 μm^2 deutlich unter den Flächen der gemessenen Immunoblasten, welche 54,52 μm^2 bzw. 124,29 μm^2 ergaben. Die Kerngrößen/Zellgrößen Relation nimmt bei den Immunoblasten gegenüber den Lymphocyten deutlich ab. Das Zytoplasma nimmt also verhältnismäßig mehr zu als der Kern. Dieses Verhalten wird besonders bei Abb.4 deutlich, bei der die Zellfläche über der Kernfläche aufgetragen wurde. Prinzipiell ist bei Immunoblasten eine starke Eigenbewegung zu beobachten. Die Kernstruktur ist aufgelockert und es bilden sich Glanzkörner. Häufig findet eine rege Pinocytosetätigkeit statt. Die Fortbewegung erfolgt in der typischen Form mit einer breit undulierenden Membran an der Frontseite und mit einem schmalen Bürzel am Ende der Zelle.

Abb.3

108/1325 Immunoblast in typischer Ruheform (Teilbild I u.IV) und Bewegungsform (Teilbild II, III und V)



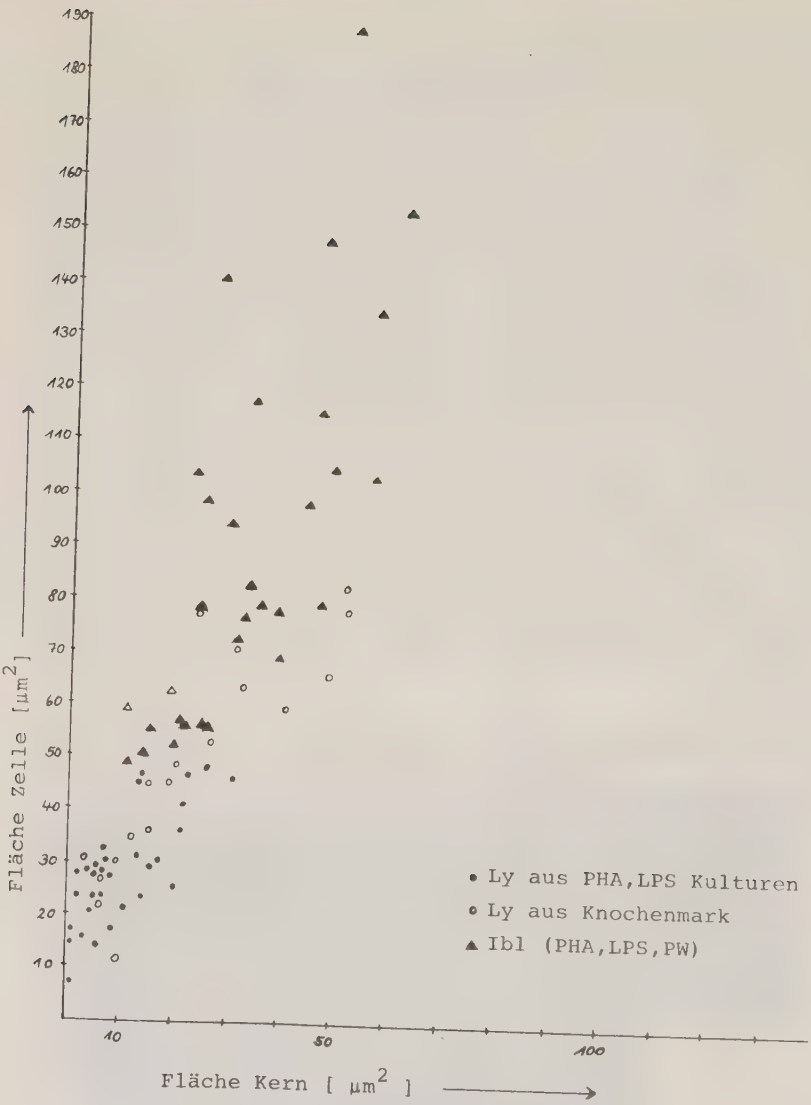
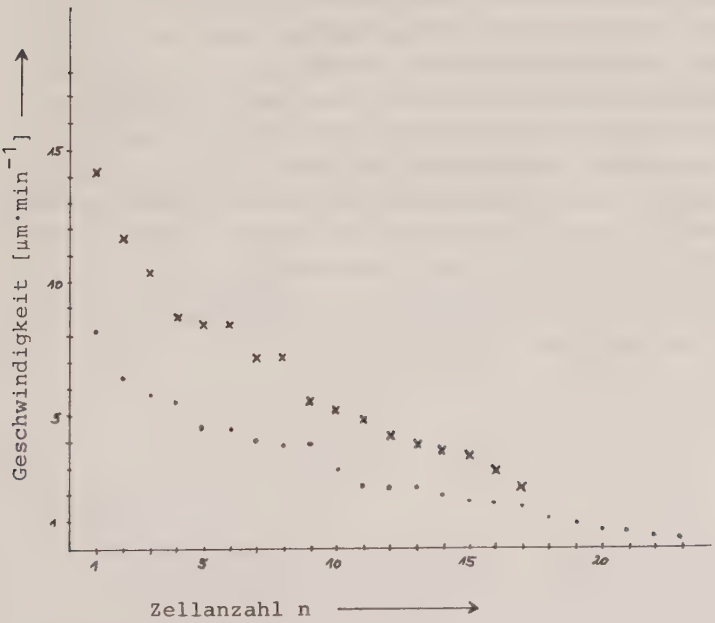


Abb.4

Das Diagramm zeigt das unterschiedliche Kern-Plasma Verhältnis bei PHA-, LPS-Lymphocyten, normalen Knochenmarklymphocyten und Immunoblasten.

Der schnellste Lymphocyt wanderte mit einer Geschwindigkeit von 14,2 µm · min^{-1}, der schnellste Immunoblast mit 8,1 µm · min^{-1}. Die Mittelwerte sind aus der Tabelle 9 (S.23) zu ersehen. In Abb.5 sind alle gemessenen Zellen nach ihrer Geschwindigkeit aufgetragen.
Das Diagramm zeigt, daß sich die Mehrzahl der Lymphocyten und Immunoblasten mit einer Geschwindigkeit zwischen 2 - 7 µm · min^{-1} bewegen.

Abb.5



× PHA Lymphocyten
· PHA Immunoblasten

Tabelle 2

Pokeweed stimulierte Zellen

N	Film Nr.	Pat.	Zelle	Fläche Kern [μm^2]	Fläche Zelle [μm^2]	K/Z	Geschw. [$\mu m \cdot min^{-1}$]
1)	255/2370	G.	Ibl	-	160,7	-	6,2
2)	255/2370	G.	Ibl	-	174,6	-	5,3
3)	269/2526	W.	Ibl	53,8	113,6	0,47	2,5
4)	269/2531	Gw.	Ibl	41,3	87,7	0,47	4,6
5)	269/2569	L.	Ibl	39,4	93,4	0,42	0,8
6)	269/2619	S.	Ibl	53,0	107,7	0,49	7,5
7)	269/2648	D.M.	Ly	20,8	38,4	0,54	7,3

Aus Pokeweed stimulierten Zellkulturen von Blutgesunden wurden 6 Immunoblasten und 1 Lymphocyt gemessen. Annähernd gleiche Werte wie Phytohämagglutinin stimulierte Immunoblasten ergaben sich bei Kern- bzw. Zellgrößen. Die Kern/Plasma Relation liegt mit 0,38 noch niedriger als die der PHA stimulierten Zellen mit 0,44.
Die sechs gemessenen Immunoblasten wanderten durchschnittlich mit 4,5 $\mu m \cdot min^{-1}$, was gegenüber den PHA Immunoblasten (2,9 $\mu m \cdot min^{-1}$) leicht erhöht erscheint.

Die Abb.6 zeigt alle gemessenen PW Immunoblasten nach ihrer Geschwindigkeit aufgetragen.

Abb.6

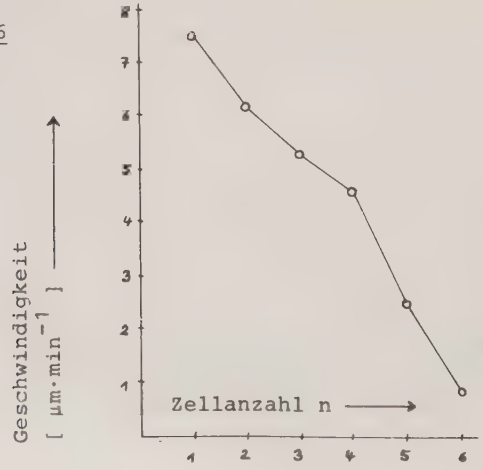


Tabelle 3

Lipopolysaccharid stimulierte Zellen

N	Film Nr.	Pat.	Zelle	Fläche Kern [μm^2]	Fläche Zelle [μm^2]	K/Z	Geschw. [$\mu m \cdot min^{-1}$]
1)	XI 74/2792	S.	Ly	-	43,4	-	-
2)				-	36,2	-	0,5
3)				-	42,3	-	1,1
4)	XI 74/2780	I.	Ly	-	58,3	-	11,4
5)	295/2784	W.	Ly	22,4	58,3	0,38	-
6)	295/2780	I.	Ly	45,9	78,9	0,58	9,2

Aus Lipopolysaccharid stimulierten Zellkulturen wurden 6 Lymphocyten gemessen. Die Kern- bzw. Zellgrößen liegen im Bereich der Norm der gemessenen PHA Lymphocyten. Die durchschnittliche Geschwindigkeit beträgt 5,5 $\mu m \cdot min^{-1}$. Auf Grund des kleinen Stichprobenumfanges und der großen Standardabweichung sollte jedoch die Aussagekraft nicht überbewertet werden. Die Abb.7 zeigt alle gemessenen LPS Lymphocyten nach ihrer Geschwindigkeit aufgetragen.

Abb.7

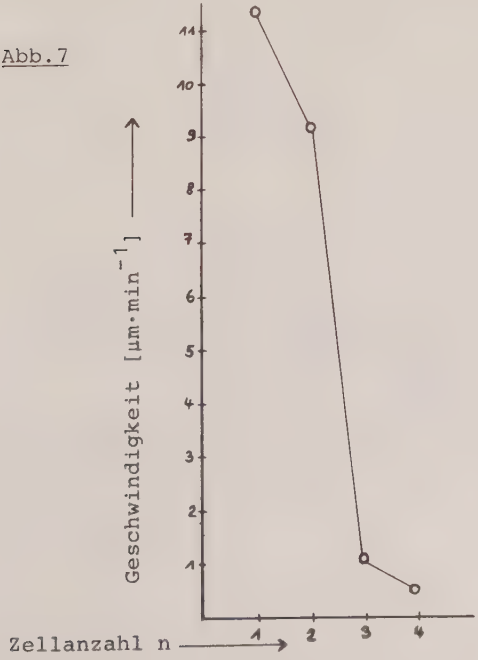


Tabelle 4

Unstimulierte Leukozytenkulturen

N	Film Nr.	Pat.	Zelle	Fläche Kern [μm^2]	Fläche Zelle [μm^2]	K/Z	Geschw. [$\mu m \cdot min^{-1}$]
1)	35/1318/19	P.	Ly	15,7	40,0	0,39	-
2)	35/1320	P.	Ly	26,9	57,1	0,47	7,6
3)	35/1301	P.	Ly	30,6	52,6	0,58	-
4)				36,3	59,9	0,6	-
5)	297/2666	L.	Ly	-	51,8	-	1,3
6)				34,3	54,3	0,63	6,2
7)				-	33,1	-	14,1
8)	297/2666	L.	Ly	-	42,5	-	19,3
9)	297/2707	L.	Ly	-	99,8	-	14,6
10)				-	71,4	-	21,2
11)	51/790	La.	Ly	-	37,5	-	0,5
12)				-	48,2	-	5,3
13)				-	41,0	-	3,3

Aus unstimulierten Leukozytenkulturen wurden 13 Lymphocyten gemessen. Die durchschnittliche Kern- bzw. Zellgröße der Lymphocyten mit 28,76 μm^2 bzw. 52,62 μm^2 entspricht fast den PHA Lymphocyten. Lediglich die Kern/Plasma Relation liegt mit 0,55 geringfügig höher.
Der schnellste Lymphocyt wanderte mit 21,2 $\mu m \cdot min^{-1}$.
Die Durchschnittsgeschwindigkeit beträgt 9,34 $\mu m \cdot min^{-1}$.
In Abb.8 sind alle gemessenen Lymphocyten aus unstimulierten Leukozytenkulturen nach ihrer Geschwindigkeit aufgetragen. Grundsätzlich unterscheiden sich Lymphocyten aus unstimulierten Leukozytenkulturen nicht von PHA, PW oder LPS stimulierten Lymphocyten.
Die annähernde Übereinstimmung der Mittelwerte von Kernfläche, Zellfläche und Geschwindigkeit, sowie die morphologische Erscheinung berechtigen zu dieser Feststellung.

Abb.8
Lymphocyten aus unstimulierten Leukozytenkulturen nach ihrer Geschwindigkeit aufgetragen.

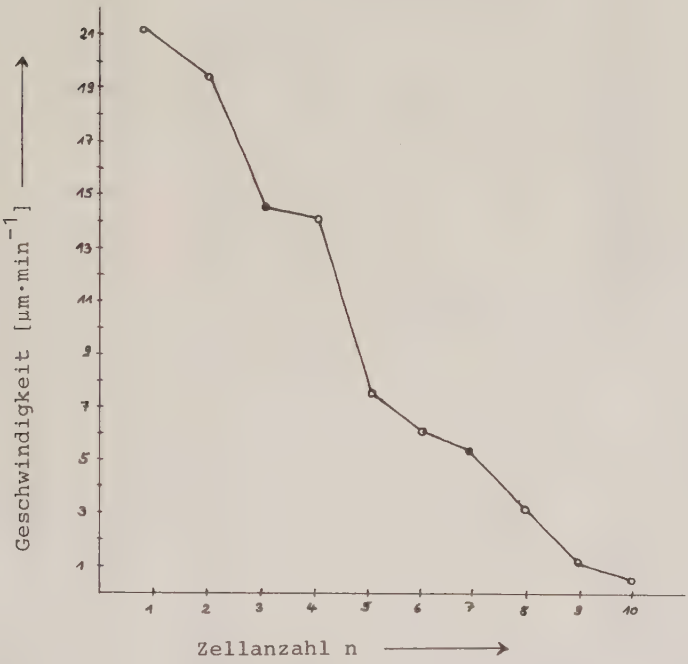


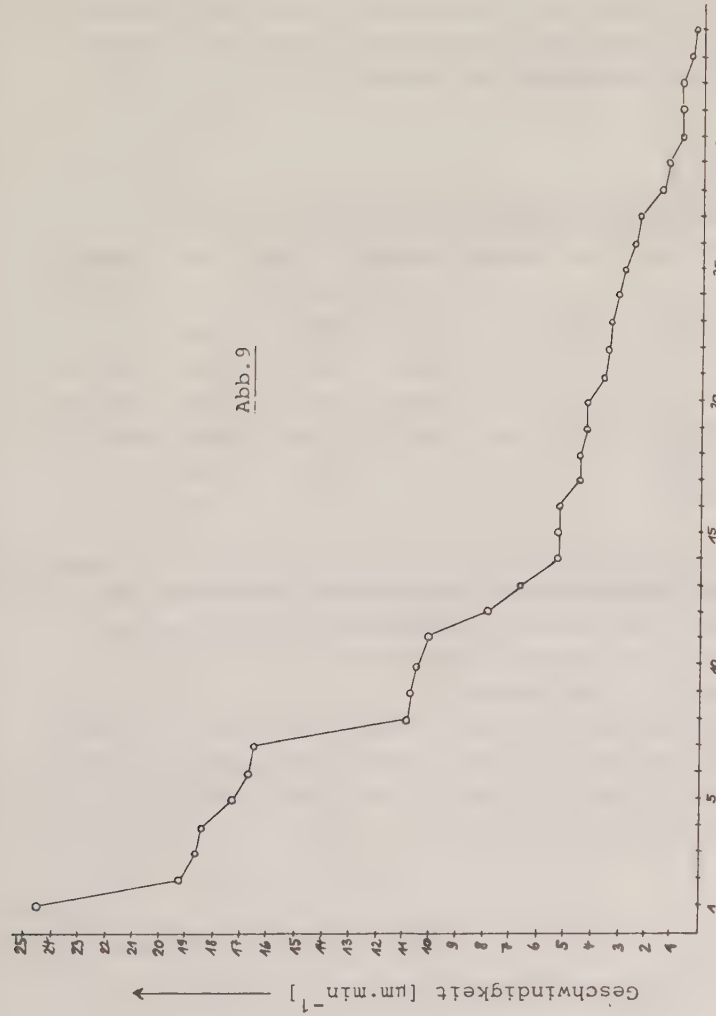
Tabelle 5
Lymphocyten aus Knochenmarkkulturen

N	Film Nr.	Pat.	Zelle	Fläche Kern [µm^2]	Fläche Zelle [µm^2]	K/Z	Geschw. [µm·min^{-1}]
1)	1582/86	Pf.	Ly	68,9	95,9	0,71	5,2
2)	142/1369	H.	Ly	-	36,7	-	4,1
3)	271/2627	Schw.	Ly	-	29,8	-	4,3
4)	948/1526	J.	Ly	-	122,5	-	2,9

N	Film Nr.	Pat.	Zelle	Fläche Kern [µm²]	Fläche Zelle [µm²]	K/Z	Geschw. [µm·min⁻¹]
5)	51/658	Schm.	Ly	29,9	42,5	0,7	0,2
6)	51/658	Schm.	Ly	27,0	52,6	0,51	-
7)				41,0	67,3	0,6	0,3
8)	22/630	Pr.	Ly	46,8	83,5	0,56	-
9)	22/546	B.	Ly	71,8	108,1	0,66	-
10)	79/963	K.	Ly	35,2	66,6	0,52	-
11)	79/954	Br.	Ly	-	80,6	-	1,1
12)	79/896	F.	Ly	31,8	65,3	0,48	-
13)	79/898a	N.	Ly	14,4	39,6	0,36	-
14)	79/853	L.	Ly	29,4	60,2	0,48	-
15)	173/1500	Leh.	Ly	-	48,7	-	2,3
16)				-	37,5	-	1,3
17)	173/1884	P.	Ly	-	33,0	-	10,9
18)				-	-	-	5,2
19)				-	-	-	16,8
20)	173/1727	Gh.	Ly	-	42,1	-	5,2
21)	98/911	Scha.	Ly	-	62,4	-	6,6
22)				-	80,6	-	10,8
23)	51/1286	Pf.	Ly	72,2	113,0	0,64	4,3
24)	51/771	Da.	Ly	-	48,9	-	3,3
25)	51/739	B.	Ly	-	71,4	-	3,5
26)	51/1826	Pf.	Ly	-	81,8	-	3,4
27)				-	76,0	-	4,1
28)	51/658	Schm.	Ly	-	40,5	-	0,6
29)				-	52,8	-	0,6
30)				-	59,4	-	0,6
31)	51/632	Ba.	Ly	-	33,3	-	2,1
32)	XI 74/2794	B.	Ly	-	37,3	-	10,0
33)	XI 74/2805	L.	Ly	-	10,9	-	10,5
34)	101/948	D.	Ly	52,5	93,0	0,56	16,6
35)	101/948	D.	Ly	39,4	75,3	0,52	7,8
36)	169/1119	Go.	Ly	36,4	57,6	0,63	17,2
37)	169/1119	Go.	Ly	51,0	101,3	0,50	19,1
38)	169/1119	Go.	Ly	60,5	88,9	0,68	24,5

N	Film Nr.	Pat.	Zelle	Fläche Kern[μm^2]	Fläche Zelle[μm^2]	K/Z	Geschw. [$\mu m \cdot min^{-1}$]
39)	169/1119	Go.	Ly	40,1	79,5	0,50	18,4
40)	169/1119	Go.	Ly	35,7	75,1	0,47	18,5
41)	228/2578	Th.	Ly	18,1	46,9	0,38	3,1

Abb.9



Die Abb.9 zeigt alle gemessenen KM Lymphocyten nach ihrer Geschwindigkeit aufgetragen.

Insgesamt wurden 41 Lymphocyten aus Knochenmarkkulturen gemessen. Die durchschnittliche Kernfläche mit 42,22 μm^2 und die Zellfläche mit 63,59 μm^2 entspricht fast genau den von SOMMER 1976 an anderem Filmmaterial ermittelten Werten. Die Kern/Plasma Relation beträgt 0,66. Der schnellste gemessene Lymphocyt wanderte mit 24,5 $\mu m \cdot min^{-1}$. Die Durchschnittsgeschwindigkeit liegt bei 6,7 $\mu m \cdot min^{-1}$. Die Abb.9 zeigt alle gemessenen KM Lymphocyten nach ihrer Geschwindigkeit aufgetragen.

Tabelle 6

Lymphocyten von lymphatischen Systemerkrankungen

N	Film Nr.	Pat.	Zelle	Fläche Kern [μm^2]	Fläche Zelle [μm^2]	K/Z	Geschw. [$\mu m \cdot min^{-1}$]
1)	215/2529	Schn.	Ly	21,7	40,2	0,54	3,0
2)				18,8	46,3	0,41	4,3
3)				21,0	38,0	0,55	2,9
4)	237/2220	M.L.	Ly	26,1	53,9	0,48	3,5
5)	79/919	M.	Ly	27,2	47,0	0,57	2,3
6)	79/849	V.	Ly	36,4	78,7	0,46	3,5

Aus Zellmaterial (Blut und KM) von Patienten mit lymphatischen Systemerkrankungen wurden 6 Lymphocyten gemessen. Die durchschnittliche Kerngröße mit 25,2 μm^2 und die Zellgröße mit 50,33 μm^2 entspricht fast genau den gemessenen PHA Lymphocyten.
Die Durchschnittsgeschwindigkeit liegt mit 3,25 $\mu m \cdot min^{-1}$ jedoch deutlich unter der von PHA Lymphocyten. Die Prüfstatistik ergab hier einen signifikanten Unterschied (siehe Prüfstatistik S.24).

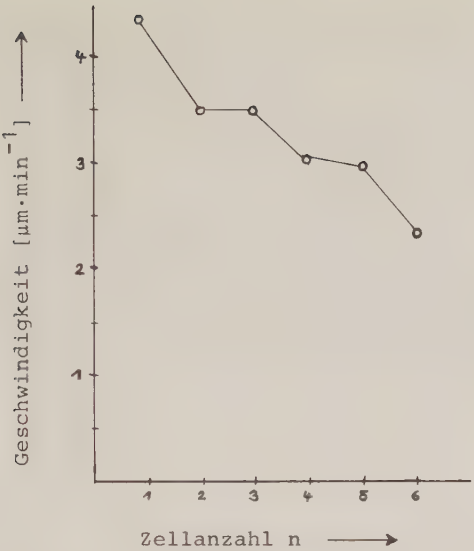


Abb.10
Das Diagramm zeigt die gemessenen LS Lymphocyten nach ihrer Geschwindigkeit aufgetragen.

Tabelle 7
Lymphocyten aus chronisch lymphatischen Leukämien

N	Film Nr.	Pat.	Zelle	Fläche Kern [µm^2]	Fläche Zelle [µm^2]	K/Z	Geschw. [µm·min^{-1}]
1)	142/1385	L.	Ly	-	76,2	-	1,3
2)	98/1166	G.	Ly	-	63,7	-	2,4
3)	98/793	H.	Ly	-	51,0	-	8,1
4)	22/539	W.	Ly	30,4	62,4	0,48	-
5)	247/2314	B.	Ly	22,8	42,8	0,53	13,6
6)				-	42,8	-	8,2
7)				-	49,4	-	19,6
8)	248/2321	E.	Ly	20,6	43,1	0,47	16,2
9)				19,9	39,1	0,50	10,2

Aus unstimulierten Knochenmarkkulturen von Patienten mit chronisch lymphatischer Leukämie wurden 9 Lymphocyten gemessen. Die Kern- bzw. Zellgrößen waren mit 23,42 μm^2 bzw. 51,89 μm^2 fast identisch mit den LS Lymphocyten und den PHA Lymphocyten.
Die Durchschnittsgeschwindigkeit war mit 9,95 $\mu m \cdot min^{-1}$ die höchste aller Vergleichsgruppen. Auf Grund des kleinen Stichprobenumfanges und der großen Standardabweichung konnte jedoch kein signifikanter Unterschied zu den Vergleichsgruppen errechnet werden. In der Abb.11 sind alle gemessenen CLL Lymphocyten nach ihrer Geschwindigkeit aufgetragen.

Abb.11
Das Diagramm zeigt CLL Lymphocyten nach ihrer Geschwindigkeit aufgetragen.

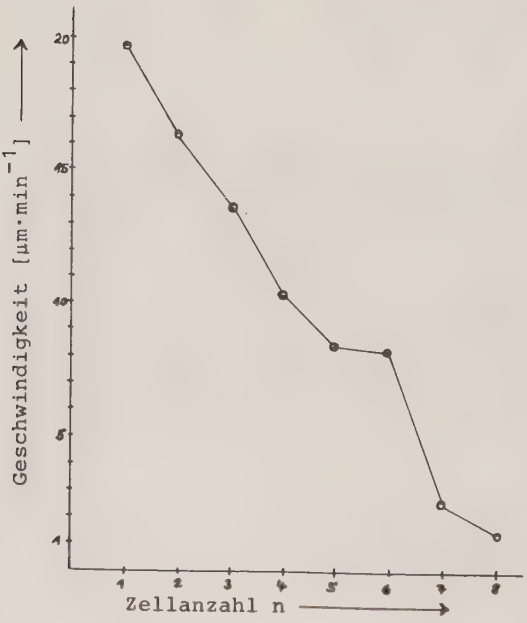


Tabelle 8

Stimulierte Lymphocyten

N	Film Nr.	Pat.	Zelle	Fläche Kern [μm^2]	Fläche Zelle [μm^2]	K/Z	Geschw. [$\mu m \cdot min^{-1}$]	
1)	136/2055	R.	Ly	41,6	71,4	0,58	2,5	PHA
2)	237/2220	M.L.	Ly	51,0	76,4	0,66	2,7	
3)	136/1332	M.	Ly	33,6	75,2	0,44	1,0	
4)				21,8	54,4	0,4	2,0	
5)	167/2087	S.	Ly	44,1	107,7	0,4	0,6	KM
6)	167/2682	K.	Ly	-	90,4	-	2,1	
7)	51/794	H.	Ly	37,1	61,7	0,6	0,1	
8)	248/2357	R.	Ly	38,7	57,9	0,66	1,3	

Vereinzelt konnten Lymphocyten mit atypischer Motilität beobachtet werden.
Insgesamt wurden acht dieser „stimulierten" Lymphocyten gemessen. Je vier aus PHA Kulturen und aus KM Kulturen. Die PHA stimulierten Lymphocyten wiesen eine durchschnittliche Kern- bzw. Zellgröße von 36,8 μm^2 bzw. 69,3 μm^2 auf. Dagegen waren die stimulierten Lymphocyten aus KM Kulturen mit 40,0 μm^2 bzw. 79,4 μm^2 etwas größer.

In der Geschwindigkeit waren die PHA stimulierten Lymphocyten mit 2,1 $\mu m \cdot min^{-1}$ gegenüber 1,0 $\mu m \cdot min^{-1}$ der KM stimulierten etwas schneller. Der kleine Stichprobenumfang und die im Verhältnis hohe Standardabweichung lassen jedoch keine genauen Schlüsse zu.

Auffallend war, daß lediglich ein stimulierter Lymphocyt in der typischen Handspiegelform wanderte.

Tabellarische Zusammenfassung aller Meßwerte

In der Tabelle 9 sind die Mittelwerte und Standardabweichungen der Tabellen 1 - 8 aufgeführt.
Es wurden, soweit möglich, die Kernfläche in μm^2, die Zellfläche in μm^2 sowie die Kern/Plasma Relation der Flächen und die Geschwindigkeit der aktiven Bewegung in $\mu m \cdot min^{-1}$ ermittelt.

Die Berechnung der Standardabweichung erfolgte nach der Formel:

$$s = \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

dabei bedeutet:

x = gemessene Größe (Geschw.,Zell- bzw. Kerngröße)

$\bar{x}$ = Mittelwert

n = Anzahl der Zellen

Material	n	Zelle	Kern [μm^2]		Zelle [μm^2]		Kern/Zelle	Geschwindigkeit [$\mu m \cdot min^{-1}$]	
			$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s		$\bar{x}$	s
normal									
KM	39	Ly	42,22	16,86	63,59	25,63	0,66	7,22	6,73
ULK	13	Ly	28,76	8,14	52,62	17,35	0,55	9,34	7,44
PHA	18	Ly	26,11	7,21	51,33	12,14	0,51	6,54	3,36
LPS	6	Ly	34,1	16,6	52,9	15,6	0,64	5,5	5,5
stimulierte Lymphocyten									
KM	4	Ly	40,0	3,7	79,4	23,5	0,50	1,0	0,9
PHA	4	Ly	36,8	12,3	69,3	10,2	0,53	2,1	0,8
PHA	24	Ibl	54,52	15,82	124,29	37,10	0,44	2,90	2,13
PW	6	Ibl	46,8	7,6	122,9	36,1	0,38	4,5	2,5
pathologisch									
LS	6	Ly	25,20	6,34	50,33	14,57	0,50	3,25	0,68
CLL	8	Ly	23,42	4,81	51,89	12,53	0,45	9,95	6,37

Tabelle 9

Prüfstatistik

Mit Hilfe der Teststatistik wurde untersucht ob die Gruppen sich überzufällig (d.h.signifikant) unterscheiden, oder ob die beobachteten Unterschiede nur auf Zufall zurückzuführen sind. Auf Grund der kleinen Stichprobenumfänge wurden parameterfreie Tests verwandt; der U-Test nach MANN-WHITNEY für zwei Stichproben, der H-Test nach KRUSKAL-WALLIS für drei Stichproben. Es wurden immer die Variablen K (Kernfläche), Z (Zellfläche) und G (Geschwindigkeit) getestet. Zugrundegelegt wurde ein maximales Risiko für den Fehler I.Art von $\alpha = 0,05$.

Tabelle 10

Die Tabelle zeigt die bei der Prüfstatistik verglichenen Gruppen.

Test	Vergleichsgruppe I	Vergleichsgruppe II	Vergleichsgruppe III
U-Test	PHA Lymphocyten	PHA Immunoblasten	-
H-Test	PHA Lymphocyten	ULK Lymphocyten	KM Lymphocyten
H-Test	PHA Lymphocyten	LS Lymphocyten	CLL Lymphocyten

Ergebnisse:

1. Der Vergleich zwischen PHA Lymphocyten und PHA Immunoblasten ergab bei allen drei Variablen K, Z und G mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von deutlich unter 1 % einen signifikanten Unterschied.
2. Der H-Test PHA Lymphocyten- ULK Lymphocyten- KM Lymphocyten ergab lediglich in der Kerngröße einen signifikanten Unterschied zwischen PHA Lymphocyten (26,11 μm^2), ULK Lymphocyten (28,76 μm^2) einerseits und KM Lymphocyten (42,22μm^2) andererseits. Hierbei lag die Irrtumswahrscheinlichkeit deutlich unter 1 %. Bei den Variablen Zellgröße und Geschwindigkeit konnte kein signifikanter Unterschied ermittelt werden.

3. Nach dem H-Test PHA Lymphocyten- LS Lymphocyten- CLL Lymphocyten konnte lediglich bei der Geschwindigkeit ein signifikanter Unterschied festgestellt werden. Zur genaueren Untersuchung der verglichenen Gruppen wurden nach dem H-Test für je zwei Gruppen drei U-Tests durchgeführt. Hierbei ließ sich nur der Unterschied zwischen PHA Lymphocyten (6,54 $\mu m \cdot min^{-1}$) und LS Lymphocyten (3,25 $\mu m \cdot min^{-1}$) mit p = 0,02 statistisch sichern und nicht wie nach dem stark differierenden Mittelwert vermutet auch zwischen CLL Lymphocyten und den Vergleichsgruppen.Die Variablen Kerngröße und Zellgröße zeigten keinen signifikanten Unterschied.

Tabelle 11

Die Tabelle zeigt die Ergebnisse der Prüfstatistik.
s.= signifikant n.s. = nicht signifikant

	Test			Variable	Ergebnis
U-Test	PHA Ly - PHA Ibl			Kerngröße Zellgröße Geschw.	s.
H-Test	PHA Ly - ULK Ly - KM Ly			Kerngröße	s.
	26,11	28,70	42,22	Zellgröße	n. s.
		[μm^2]		Geschw.	n. s.
H-Test	PHA Ly - LS Ly -CLL Ly			Kerngröße	n. s.
	6,54	3,25	9,95	Zellgröße	n. s.
		[$\mu m \cdot min^{-1}$]		Geschw.	s.
U-Test	PHA Ly - LS Ly			Kerngröße	n. s.
	6,54	3,25		Zellgröße	n. s.
		[$\mu m \cdot min^{-1}$]		Gesch.	s.

* Die Berechnungen wurden in der Abt. für Medizinische Dokumentation und Statistik des Universitätskrankenhauses Eppendorf/Hamburg unter Anleitung von Wiss.A. R. FEHR durchgeführt.

Zwischenzellige Beziehungen

Zwischenzellige Beziehungen hatten schon METCHNIKOFF 1893, OPIE 1932 und CORRELL 1922 beschrieben (HUMBLE 1956). Jedoch erst neuere Untersuchungen u.a. mit Hilfe der kinematographischen Dokumentation am Lebendpräparat gaben Auskunft dieser „cell interactions". 1956 konnte HUMBLE eine deutliche Affinität von Lymphocyten zu malignen Zellen und Zellen in Mitose beobachten. Als charakteristische Art dieser Lymphocytenbewegung läßt sich die „Emperipolese", ein Eindringen eines Lymphocyten in eine Zelle ohne diese erkennbar zu schädigen, beschreiben. Ähnliche Beobachtungen wurden von T.E.LARSEN 1970, SHARP 1959, BURNS 1967 und BESSIS 1973 gemacht. Bei eigenen kinematographischen Filmauswertungen konnte sechsmal eine Lymphocytenperipolese beobachtet werden. Dabei erfolgte die Peripolese in drei Fällen um einen Immunoblasten, in zwei Fällen um einen Erythroblasten und einmal um einen Promonocyten. Die durchschnittliche Lymphocytengeschwindigkeit bei der Peripolese betrug 5,1 $\mu m \cdot min^{-1}$, wobei bis zu vier Zellumkreisungen beobachtet werden konnten.

Abb.12

1582/86 Lymphocytenperipolese um Promonocyten

Ruheperioden

Bei längerer Beobachtung von Lymphocytenbewegungen mit Hilfe der kinematographischen Laufbildanalyse fallen bei einigen Zellen deutliche Ruheperioden auf. Die Zelle nimmt nach mehr oder weniger schneller Bewegung plötzlich eine Ruheform ein (Typ I oder II nach RIND), verharrt in dieser Position und wandert schließlich weiter. Diese Verhaltensweise beschrieben schon W.H.LEWIS und L.T.WEBSTER 1921. Eigene Beobachtungen konnten dieses Verhalten bestätigen. Die Tabelle 12 gibt über die Dauer der Ruhephasen, sowie die Geschwindigkeit der vorhergehenden bzw. anschließenden Wanderphase Auskunft. Danach werden in der Regel längere Ruheperioden nur durch kurze Wanderphasen unterbrochen. Insgesamt konnten sechs Lymphocyten mit einer Gesamtbeobachtungszeit von 13 Stunden und 31 Minuten gemessen werden.

Tabelle 12

Zelle	Dauer d.Ruhephase	Dauer d.Wanderphase	Geschw.
167/2256 Pat.:P. Ly PHA	48 Min.45 Sek.	→ 13 Min.	4,8 $\mu m \cdot min^{-1}$
79/919 Pat.:M. Ly KM	200 Min.	← 10 Sek.	2,3
173/1884 Pat.:P. Ly KM	56 Min.	→ 4 Min.	10,9
		→ 40 Sek.	16,8
51/739 Pat.:B. Ly KM	3 Std.	→ 20 Min.	3,5
183/889 Pat.:H. Ly KM	1 Std.40 Min.	→ 1 Std.20 Min.	0,1
51/790 Pat.:L. Ly ULK	53 Min.	→ 1 Min.	5,3
	48 Min.	→ 6 Min.	3,3

D I S K U S S I O N

1) Wie bereits einleitend erwähnt, wurden Geschwindigkeitsmessungen von Lymphocyten von vielen Autoren durchgeführt (LEWIS, MC CUTCHEON, DE BRUYN). Während diese Untersuchungen an Menschen Lymphocyten recht hohe Geschwindigkeiten bis 30 $\mu m \cdot min^{-1}$ zum Ergebnis hatten, bezeichnete RIND die Bewegung der Lymphocyten als langsam, ohne jedoch Messungen vorzulegen.
Eigene Geschwindigkeitsmessungen von normalen KM Lymphocyten liegen durchschnittlich bei 7,22 $\mu m \cdot min^{-1}$. Dieses Ergebnis ist fast identisch mit den Untersuchungen von SOMMER und KEMPS, denen gleichartige Versuchsbedingungen aber anderes Patientenmaterial vorlagen. Aus den unterschiedlichen Versuchsbedingungen sind die teilweise recht hohen Geschwindigkeitsangaben früherer Autoren zu erklären. Bei den eigenen Untersuchungen kommen neben Spitzenwerten um 25 $\mu m \cdot min^{-1}$ sehr langsam wandernde Lymphocyten vor, die die Durchschnittsgeschwindigkeit aller gemessenen Zellen deutlich drücken. Sicherlich konnte ein Teil der „sehr schnellen" Lymphocyten nicht gemessen werden, da die vorgegebene hohe Mikroskopvergrößerung sehr kleine Bildausschnitte ergab und für die Registrierung einer sehr schnellen Bewegung ungeeignet ist. Die Zellen wanderten zum Teil schon in zwei Bildern über den Bildausschnitt, ohne vergleichbare Meßpunkte anzubieten. Zur genaueren Erfassung sehr schneller Zellen wäre also entweder ein größerer Bildausschnitt bei geringerer Vergrößerung oder eine höhere Aufnahmefrequenz pro Minute nötig.
Bei den anderen untersuchten Zellgruppen ergaben sich zum Teil deutliche Geschwindigkeitsunterschiede. Wanderten Lymphocyten aus chronisch lymphatischen Leukämien mit 9,95 $\mu m \cdot min^{-1}$ sowie Lymphocyten aus unstimulierten Leukozytenkulturen mit 9,34 $\mu m \cdot min^{-1}$, konnte bei Lymphocyten aus lymphatischen Systemerkrankungen lediglich eine

Durchschnittsgeschwindigkeit von 3,25 $\mu m \cdot min^{-1}$ gemessen werden. Die Prüfstatistik ergab einen signifikanten Unterschied zwischen der Geschwindigkeit von PHA Lymphocyten (6,54 $\mu m \cdot min^{-1}$) zu Lymphocyten aus lymphatischen Systemerkrankungen (3,25 $\mu m \cdot min^{-1}$). Da jedoch Lymphocyten aus chronisch lymphatischen Leukämien mit 9,95 $\mu m \cdot min^{-1}$ recht schnell wandern, ist es fraglich ob auf Grund der mit 3,25 $\mu m \cdot min^{-1}$ verhältnismäßig langsam wandernden Lymphocyten aus anderen lymphatischen Systemerkrankungen auf eine allgemeine Lymphocyten Motilitäts- und Mobilitätserniedrigung bei lymphatischen Systemerkrankungen zu schließen ist.

Auffallend langsamer als alle anderen Zellen mit 1,0 bzw. 2,1 $\mu m \cdot min^{-1}$ ist auch die Geschwindigkeit von stimulierten Lymphocyten aus normalem Knochenmark und aus PHA Kulturen. Die Größenordnung entspricht dem von SOMMER mit 1,91 $\mu m \cdot min^{-1}$ bei Myeloblasten ermittelten Wert. Die kleineren Stichprobenumfänge konnten jedoch keine Signifikanz erkennen lassen.

Die PHA stimulierten Immunoblasten wanderten mit durchschnittlich 2,9 $\mu m \cdot min^{-1}$ signifikant langsamer als die im gleichen Medium gemessenen Lymphocyten, was womöglich durch die Größenzunahme erklärbar ist.

2) Größenmessungen von Zell- und Kernfläche an Lymphocyten im Lebendpräparat sind bislang in der Literatur nicht vorzufinden. BESSIS gibt zwar die durchschnittliche Länge und den Durchmesser an, Flächenberechnungen fehlen jedoch. Lediglich SOMMER ermittelte in seiner Arbeit ebenfalls Flächen unter gleichen Bedingungen an anderen Zellen.
Bei den Lymphocyten aus Knochenmarkkulturen ergaben sich mittlere Zell- und Kernflächen von 63,59 μm^2 bzw. 42,22 μm^2. Diese Werte stimmen mit den von SOMMER ermittelten fast überein.
Deutlich kleiner waren die Lymphocyten aus PHA Kulturen

und unstimulierten Leukozytenkulturen. Eine Signifikanz ließ sich jedoch nur beim Vergleich der Kerngröße von KM Lymphocyten zu ULK- und PHA Lymphocyten ermitteln. Ein gehäuftes Auftreten von kleinen Lymphocyten bei längerer Inkubierung der ULK- bzw.PHA-Präparate könnte für dieses Ergebnis verantwortlich sein (TANAKA), da nur sehr wenig gemessene Zellen aus dem Originalpräparat stammten.
Größere B-Zellen (im KM) als T-Zellen (im Blut) könnten als Erklärung für den höheren Mittelwert aus den KM-Kulturen herangezogen werden.
Signifikante Vergrößerungen ergaben sich beim Größenvergleich von PHA Lymphocyten zu PHA Immunoblasten. Dabei zeigten die PW Immunoblasten und PHA Immunoblasten kaum Abweichungen voneinander.
Die Abnahme der Kerngrößen/Zellgrößen Relation von 0,51 bei PHA Lymphocyten auf 0,44 bei PHA Immunoblasten weist auf die relativ stärkere Zunahme von Zytoplasma bei Immunoblasten hin, was auch das Diagramm auf S.10 zeigt.

3) Schwierigkeiten bereitet oft die Differenzierung zwischen Lymphocyten und Myeloblasten in den Ruheformen. Der Lymphocyt wurde von RIND als kleine Zelle mit relativ großem Zellkern, fleckig-wolkiger oder lockig-streifiger Chromatinstruktur, zart grauem Zytoplasma mit runden oder ovalen Granula sowie vereinzelten Glanzkörnern beschrieben.
Abweichend hiervon ist nach NITZEL der Myeloblast geringfügig größer, die Chromatinstruktur seines Kernes und die Nucleolen sind kaum ausgeprägt, sein Zytozentrum deutlicher. Das Zytoplasma ist dunkler und es sind mehr Granula vorhanden. Eine deutliche Unterscheidung der beiden Zellen ist jedoch phasenoptisch in der Ruheform nicht sicher möglich. SOMMER konnte dies mit vergleichenden Größenmessungen Lymphocyt-Myeloblast bestätigen.

Anders verhält es sich mit den Bewegungsformen. Hier nimmt der Lymphocyt die viel beschriebene Handspiegelform ein, mit einer breit undulierenden Membran an der Vorderseite und einem pseudopodienartigen Bürzel an der Hinterseite. Der Myeloblast hingegen bewegt sich wurmartig oder rotierend fast mit schmalen zarten Zytoplasmamembranen sowie spitzen Zytoplasmafortsätzen an der Frontseite und teilweise auch an der Rückseite der Zelle. Diesen Unterschied in der Bewegungsform beschrieb schon RICH et al.1939. NITZEL 1972 bestätigte dies in seinen Untersuchungen an leukämischen Blasten. Unterschiedlich ist ebenfalls die Geschwindigkeit von Lymphocyten und Myeloblasten. SOMMER ermittelte 1,91 $\mu m \cdot min^{-1}$ bei Myeloblasten und 7,22 $\mu m \cdot min^{-1}$ bei Lymphocyten, was eigene Messungen bestätigen.

Das Bewegungsverhalten der acht beobachteten „stimulierten" Lymphocyten wich von dem der normalen Lymphocyten ab. Zwar konnte bei einem „stimulierten" Lymphocyten Bewegung in Handspiegelform beobachtet werden, die übrigen bewegten sich jedoch wie „auf der Stelle tanzend", mit mehreren Hin- und Herbewegungen ohne große Ortsveränderung. Auffallend war dabei eine rege Zellmotilität.

Die Fähigkeit zur Peripolese und Emperipolese konnte bis jetzt nur von Lymphocyten beobachtet werden. Relativ einfach läßt sich der Immunoblast von Lymphocyt und Myeloblast unterscheiden. Besonders fällt die lebhafte Oberflächenbewegung mit zart undulierenden Membranen und die lockere Kernstruktur bei Immunoblasten auf. Die Bewegungsform entspricht der des Lymphocyten.

4) Die beobachteten zwischenzelligen Beziehungen in Form von Peripolese, aber auch die deutliche Affinität von Lymphocyten zu malignen Zellen und Zellen in

Mitose wurden von SHARP und BURWELL 1960 als Informationsaustausch zwischen den kontaktierenden Zellen gedeutet. Dieses Verhalten ist offenbar mit dem viel beobachteten „Rosetten Phänomen" (COHNEN,ELSON) im gefärbten Ausstrich gleichzusetzen.
Ein Teilchenaustausch konnte bis heute jedoch auch elektronenmikroskopisch nicht bewiesen werden (BESSIS).
Bei den sechs hier beobachteten Peripolesevorgängen wurde eine Durchschnittsgeschwindigkeit der Lymphocyten von 5,1 $\mu m \cdot min^{-1}$ ermittelt. Die zunächst vermutete erhöhte Geschwindigkeit bei der Peripolese konnte nicht bestätigt werden.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß die vorgenommenen phasenkontrastmikroskopischen Verlaufsbeobachtungen gute Einblicke in Lymphocyten- bzw. Immunoblastenkinetik ergaben. Erst mit Hilfe des Zeitrafferfilmes konnte das Wechselspiel zwischen Ruhe- und Bewegungsphasen verdeutlicht werden, was bei Segmentkernigen nie beobachtet werden konnte. Auf Grund der typischen Bewegungsform der Lymphocyten konnte eine klare Differenzierung von Myeloblasten erfolgen, was bei den Ruheformen nicht mit Sicherheit möglich war.
Eine Ausnahme bildeten die acht beobachteten stimulierten Lymphocyten, von denen lediglich einer in Handspiegelform wanderte.

Z U S A M M E N F A S S U N G

In dieser Arbeit wurden insgesamt 102 vitale Lymphocyten und 31 Immunoblasten aus Blut und Knochenmark im Phasenkontrastmikroskop auf Kerngröße, Zellgröße und Lokomotionsgeschwindigkeit untersucht.

Es wurden teilweise stimulierende Zusätze von Phytohämagglutinin, Pokeweed und Lipopolysaccharid verwendet. Ein Teil des Zellmaterials stammte von Patienten mit lymphatischen Systemerkrankungen oder chronisch lymphatischen Leukämien. Bei den Messungen ergab sich ein signifikanter Unterschied zwischen PHA Lymphocyten und PHA Immunoblasten in Kerngröße, Zellgröße und Geschwindigkeit, wobei die Immunoblasten größer waren, jedoch langsamer wanderten. Signifikanzen ergaben sich ebenso im Kerngrößenvergleich von KM Lymphocyten und Lymphocyten aus unstimulierten Leukozytenkulturen, wobei die Kerne der KM Lymphocyten deutlich größer waren, sowie im Geschwindigkeitsvergleich von Phytohämagglutinin stimulierten Lymphocyten und Lymphocyten aus lymphatischen Systemerkrankungen, wobei letztere deutlich langsamer wanderten. Besondere Beachtung fanden zwischenzellige Beziehungen in Form von Peripolesevorgängen und der Wechsel von Ruhe- und Bewegungsphasen bei den Lymphocyten, was nur durch eine Laufbildbetrachtung ermöglicht wurde. Schließlich konnten Unterschiede zwischen Myeloblasten und Lymphocyten verdeutlicht werden.

L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

Bessis,M. — Living blood cells and their ultrastructure. Springer Verlag 1973

Biberfeld,P. — Uropod formation in phytohämagglutinin (PHA) stimulated lymphocytes. Exp. Cell. Res. 66,433-45 1971

Boll,I. Kretschmer,V. Fliedner,T.M. — Kinematographische Dokumentation einer amitotischen Zellteilung. Z.Zellforsch. 83 1967

Boll,I. — Bewegungsstudien an nicht stimulierten und stimulierten Lymphocyten sowie Retothelsarkomzellen. Leukozytenkulturen F.K.Schattauer Verlag Stuttgart 1971

Boll,I. Nitzel,H. — Die Kinetik leukämischer Blasten (Myeloblasten,Monoblasten,Lymphoblasten) im Vergleich mit Mononucleosezellen. Leukämie Springer Verlag 1972

Brecher,G. — On the Nomenclature of White Cell Movements. Blood Cells 2,473 1976

Burns,E.R. — Tumor Cell - Tumor Cell Emperipolesis. Exp. Cell Res. 48,229 1967

Cohnen,G. Augener,W. Buka,A. Brittinger,G. — Rosette-Forming lymphocytes in Normals and Patients with Malignant Lymphomas. Acta Haemat. 51,65-75 1974

De Bruyn,P.P.H. The motion of the migrating cells in tissue cultures of lymph nodes Anatomical Record 93,295 1945

De Bruyn,P.P.H. Locomotion of blood cells in tissue cultures Anatomical Record 89,43 1944

Dixon,H.M.
Mc Cutcheon,M. Absence of chemotropism in lymphocytes Arch.Path. 19,679-83 1935

Elson,C.J.
Allan,D. The Relationship between the Morphology of Rosette-Forming Cells and their Mode of Rosette Formation Immunology 22,241 1972

Gowans,J.L. The fate of parental strain small lymphocytes in F_1 hybrid rats Ann.New york Acad. 99,432 1962

Harris,H. The movement of lymphocytes Brit.J.exp.Path. 34,599 1953

Harris,H. Role of Chemotaxis in Inflammation Physiol.Rev. 34,599 1954

Hirschfeld,H.
Wolff,A. Über die amoeboide Bewegung von Lymphocyten in einem Fall von lymphatischer Leukämie Berl.klin.Wchnschr. 38 1901

Humble,J.G.
Biological Interaction between Lymphocytes and other cells
Brit.J. Haemat. 2,283 1956

Jolly,M.J.
Sur la vitesse du mouvement de reptation des leucocytes
Compt.rend.Soc.de biol. 5,30 1898

Kass,L.
De Bruyn,P.P.H.
Chemotaxis of Mature and Immature Blood Cells in Tissue Cultures
Anat.Rec. 159,115 1967

Kemps,D.
Lymphocytengeschwindigkeit in vitro bei Betatron-bestrahlten Patienten
Diss. 1968 FU Berlin Med.Fakultät

Larsen,T.E.
Emperipolesis of Granular Leukocytes within Megakaryocytes in Human Hemopoietic Bone Marrow
Amer.J.clin.Path. 4,53 1970

Lewis,W.H.
Webster,L.T.
Migration of lymphocytes in Plasma cultures of human lymph nodes
J.Exper.Med. 33 1921

Maximow,A.
Cultures of blood leucocytes.From lymphocyte and monocyte to connective tissue
Arch.f.exper.Zellforsch. 5,169 1928

Mc Cutcheon,M.
Studies on the locomotion of leucocytes
Am.J.Physiol. 66,180-84 1923

Neumann,E.
Die Leukocyten und verwandte Zellformen
Virchows Arch. 174 1903

Norberg,B. Rydgren,L. Söderström,N. Lymphocyte Locomotion Lymphology 6 187-191 1973

Nowell,P.C. Phytohemagglutinin:An Initiator of Mitosis in Cultures of Normal Human Leukocytes Cancer Research 20 1960

Porter,K.A. Cooper,E.H. Recognition of transformed small lymphocytes by combined chromosomal and isotopic labels Lancet 2 317 1962

Ranvier,L. Taite Technique d Histologie F.Savy Paris 1875

Rich,A.R. Wintrobe,M.M. The differentation of myeloblast from lymphoblasts by their manner of Locomotion Bull.of the J.H.Hospital 1939

Richter,I.E. Die Auswertung cytologischer Forschungsfilme mit Hilfe der Teilbild-Analyse Research Film Vol.4 No.3 1962

Rind,H. Atlas der Phasenkontrasthämatologie Akademie Verlag Berlin 1958

Sharp,J.A. Burwell,R.G. Interaction (Peripolesis) of Macrophages and Lymphocytes after skin Homografting or Challenge with solube antigens Nature 188,474 1960

Sommer,H.M. Phasenkontrastkinematographie von Knochenmark-Stammzellen beim Menschen
Diss. 1976 Fu Berlin Med.Fachbereich

Stobbe Bewegungsformen der Leukocyten
Med.Bild Jg.6 H.2 1963

Tanaka,Y. Transformation of Lymphocytes in Cultures of Human Peripheral Blood
Blood Vol.22 No.5 1963

Weiss,P. Guiding Principles in cell locomotion and cell aggregation
Exp. Cell Res. 8,260 1961

Yoffey,J.M. The present status of the lymphocyte problem
Lancet 1 206 1962

An dieser Stelle möchte ich Frau Professor Dr.med. Irene B o l l für die Überlassung des Themas und ihre stetige und großzügige Unterstützung danken.

L e b e n s l a u f

Ich wurde am 24.8.1947 in Metelen/Westfalen als Sohn des Kaufmanns Edmund Gebauer und seiner Ehefrau Elisabeth geb. Adelt geboren.
Von 1954 bis 1958 ging ich zur Grundschule in Berlin-Gatow. Ab 1958 besuchte ich das humanistische Internat „Kolleg St. Blasien" im Schwarzwald. 1964 wechselte ich auf das Kant-Gymnasium in Berlin-Spandau, wo ich im Februar 1968 die Reifeprüfung ablegte.
Ab Sommersemester 1968 studierte ich an der Freien Universität Berlin Zahnmedizin und legte hier im Sommersemester 1973 mein Staatsexamen ab.
Ab Oktober 1973 arbeitete ich als Assistent in einer Kassenzahnarztpraxis in Berlin-Neukölln.
Im Oktober 1977 ließ ich mich als selbständiger Kassenzahnarzt in Hamburg-Bergedorf nieder.